

## KARAKTERISTIK MIKROBIOLOGIS PROBIOTIK TERENKAPSULASI

W. N. H. ZAIN<sup>1</sup>, R. R. A. MAHESWARI<sup>2</sup> dan SUTRIYO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Sultan Syarif Kasim Riau

Jl. H. R. Soebrantas KM. 16 Panam Pekanbaru 28293

<sup>2</sup>Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor

Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor Jawa Barat 16680

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

Kampus Baru UI Depok Jawa Barat – 16424

E-mail: wieda.nhz@uin-suska.ac.id

### ABSTRACT

Milk fermentation is one of a technique in milk preservation. The mechanism is to fermentate lactose becoming lactic acid by lactic acid bacteria. The production and quality fermentation of milk is affected by starter culture that usually propagated in milk. This condition can make high contamination while handling. To improve quality of the starter culture granule is by adding encapsulated probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium longum* bacteria as probiotic. The objective of this research is to study the characteristic microbiology of encapsulated probiotic (base on viability). The result showed that the population of encapsulated probiotic can be maintain in  $10^7$  CFU/g. It can be concluded that *L. acidophilus* and *B. longum* can be categorize as a probiotic bacteria.

Keywords: encapsulation, fermented milk, probiotic

### PENDAHULUAN

#### Latar Belakang

Fermentasi susu merupakan salah satu cara pengawetan susu yang telah lama dikenal. Proses ini melibatkan metabolisme laktosa dengan cara mengubahnya menjadi asam laktat. Pemanfaatan susu fermentasi yang cenderung meningkat saat ini diantaranya adalah karena dapat memberi efek yang menguntungkan bagi kesehatan konsumennya. Produk susu fermentasi yang diberi tambahan bakteri probiotik *Bifidobacterium spp.* dan *L. acidophilus* dapat digolongkan kedalam jenis produk pangan fungsional (Anal dan Singh, 2007). Guna mempertahankan daya hidup bakteri probiotik di dalam saluran pencernaan dilakukan proses enkapsulasi, yaitu proses pembentukan kapsul yang menyelubungi suatu bahan salah satunya mikroorganisme. Pembuatan susu fermentasi sangat dipengaruhi kultur starter yang digunakan, karena menentukan mutu produk yang dihasilkan. Kultur starter untuk

pembuatan susu fermentasi dadih sampai saat ini masih sulit didapatkan dipasaran.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik mikrobiologis bakteri probiotik yang terenkapsulasi serta aplikasinya terhadap kualitas mikrobiologi. Hipotesis penelitian ini adalah enkapsulasi mampu melindungi bakteri probiotik dengan viabilitas tetap tinggi (populasi minimal  $10^7$  CFU/g).

### MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan selama 3 bulan, bertempat di Laboratorium Pengolahan Susu, Bagian Ilmu Produksi Ternak Perah, Fakultas Peternakan IPB, Laboratorium Pasca Panen Pertanian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen, Bogor, dan Laboratorium Balai Besar Industri Agro, Bogor.

#### Materi

Bahan-bahan yang digunakan adalah kultur *L. acidophilus* (La RRM-01), *B. longum* (Bl RRM-01) koleksi dari Laboratorium Pengolahan Susu, Bagian Ilmu Produksi Ternak Perah Fakultas Peternakan, IPB, laktosa, *de-Man rogosa*

*sharpe broth* (MRSB), *bacteriological agar* (BA), *buffer pepton water* (BPW), susu skim, alginat, larutan saline, akuades, MRS-IM maltosa, MRS-IM glukosa (*dichloxallin*, LiCl dan *cystein hydrochloride*) dan AnaeroGen™ Oxoid Ltd. Alat-alat yang digunakan adalah cawan Petri, labu Erlenmeyer, tabung reaksi, pipet, bunsen, *refrigerator*, mikroskop, *autoclave*, *incubator*, sentrifus dingin, oven, pengaduk, spektrofotometer, panci, SEM, dan timbangan digital.

### Prosedur

#### *Tahap I. Pemeriksaan Kemurnian Kultur Starter dan Penentuan Kurva Pertumbuhan*

Pemeriksaan kemurnian kultur starter dengan metode pewarnaan Gram dan uji katalase (Fardiaz 1989), serta penentuan kurva pertumbuhan dengan menginokulasikan kultur starter selama 24 jam dan setiap jam dilakukan penghitungan jumlah bakteri menggunakan spektrofotometer  $\lambda$  620 nm (Apriyantono *et al.* 1989). Kurva pertumbuhan yang dibuat digunakan untuk menentukan waktu pemanenan.

#### *Tahap II. Enkapsulasi Bakteri Probiotik*

Enkapsulasi bakteri probiotik menggunakan metode Reyed (2007) hasil modifikasi, diawali dengan penumbuhan *L. acidophilus* atau *B. longum* (5% v/v kultur kerja) dalam MRSB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Sel-sel bakteri dipisahkan melalui sentrifugasi dingin (suhu 4°C, 10000 G selama 20 menit). Sel dari 50 ml broth dilarutkan pada 100 ml larutan 10% susu skim (w/v), 5% gliserol (v/v) dan 0,1% CaCO<sub>3</sub> (w/v), kemudian diperangkap selama 45 menit di dalam 100 ml larutan alginat steril 3%. Campuran tersebut diteteskan pada larutan CaCl<sub>2</sub> 0.1 M menggunakan spuit selama satu jam. Gel yang terbentuk dipindahkan ke dalam larutan saline (0.85%) untuk mengompakkan struktur gel, selanjutnya ke akuades steril dan diputar perlahan selama satu jam untuk menghilangkan residu CaCl<sub>2</sub>. Pengeringan

butiran gel hasil enkapsulasi menggunakan alat *freeze dry*. Pengujian bakteri probiotik berdasarkan aspek mikrobiologis meliputi viabilitas *L. acidophilus* dan *B. longum* (Dave & Shah 1996; Roy 2001) menggunakan metode hitungan cawan menurut Dewan Standarisasi Nasional (1992). Pengujian populasi bakteri probiotik sebelum dan sesudah di *freeze dry* serta bakteri kultur starter sebelum dan sesudah di *spray dry* dihitung menggunakan t-test (Steel dan Torrie 1993).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### *Tahap I Pemeriksaan Kemurnian Kultur Starter dan Penentuan Kurva Pertumbuhan*

Berdasarkan hasil pemeriksaan secara mikroskopik dengan pewarnaan Gram pada setiap jenis bakteri probiotik menunjukkan hasil dari bentuk morfologis kultur starter yang akan digunakan memiliki bentuk seragam, tidak terkontaminasi dengan bakteri lain dan termasuk kedalam jenis bakteri Gram positif, seperti disajikan pada Gambar 1. Hasil uji katalase diperoleh hasil semua jenis bakteri termasuk bakteri katalase negatif.

Berdasarkan pengamatan kurva pertumbuhan dihasilkan jumlah populasi bakteri kultur starter saat fase logaritmik sebesar  $>10^7$  CFU/g, yang sesuai dengan persyaratan populasi mikroba pada produk akhir menurut Sultana *et al.* (2000) yaitu sebanyak  $10^7$  CFU/g. Populasi awal dan waktu inkubasi kultur starter dan bakteri probiotik disajikan pada Tabel 1.

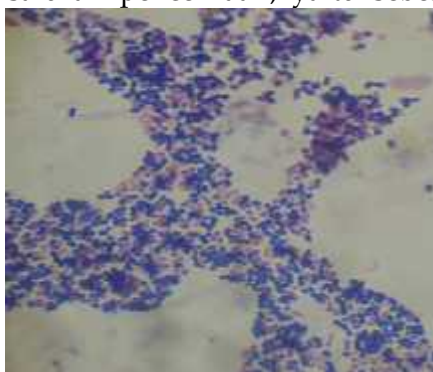
Penentuan kurva pertumbuhan mikroba didasarkan pada banyaknya jumlah populasi awal kultur starter. Hal ini bertujuan untuk memperpendek waktu adaptasi kembali kultur starter saat akan digunakan sebagai starter.

#### *Tahap II Enkapsulasi Bakteri Probiotik*

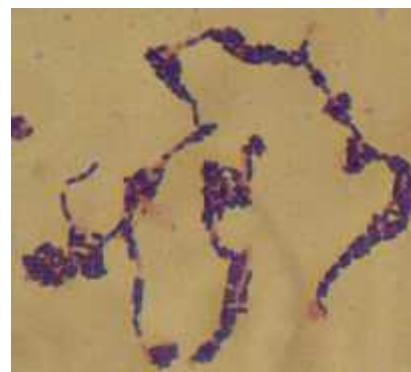
Pengujian terhadap viabilitas bakteri probiotik dilakukan dengan menghitung jumlah populasi bakteri pada saat sebelum

dan setelah *freeze dry*. Berdasarkan hasil analisis, viabilitas *L. acidophilus* menunjukkan penurunan sangat nyata ( $P < 0.01$ ) setelah *freeze dry* sebesar  $1.43 \log_{10}$  CFU/g. Penurunan populasi secara nyata ( $P < 0.05$ ) juga terjadi pada *B. longum* sebesar  $0.88 \log_{10}$  CFU/g. Penurunan viabilitas bakteri setelah *freeze dry* juga dilaporkan oleh Harmayani *et al.* (2001) yaitu sebesar 0.5-2 siklus log. Penurunan populasi masing-masing bakteri, seperti terdapat pada Tabel 2 berada pada kisaran jumlah bakteri yang harus ada secara aktif dalam saluran pencernaan, yaitu sebesar

$10^7$  CFU/g (Sultana *et al.* 2000). Proses pengeringan menggunakan *freeze dryer* menurut Buckle *et al.* (1985) merupakan pengeringan yang dilakukan melalui pembekuan melalui sublimasi, yaitu perubahan dari bentuk es dalam bahan beku langsung menjadi uap air tanpa melalui proses pencairan. Hal ini dapat mengurangi kerusakan struktur biologis sel (Reyed 2007).



a. *L. acidophilus* (La RRM-01)



b. *B. longum* (Bl RRM-01)

Gambar 1. Morfologi bakteri probiotik

Tabel 1. Populasi awal, populasi saat fase log dan waktu inkubasi bakteri kultur starter dan probiotik

Jenis bakteri probiotik	Populasi awal	Populasi saat fase log (CFU/ml)	Waktu inkubasi (jam)
<i>L. acidophilus</i> (La RRM-01)	$9.6 \times 10^7$	$3.2 \times 10^{10}$	15
<i>B. longum</i> (Bl RRM-01)	$1.4 \times 10^7$	$1.2 \times 10^9$	15

Tabel 2 Populasi probiotik *L. acidophilus* dan *B. longum* terenapsulasi melalui proses *freeze dry*

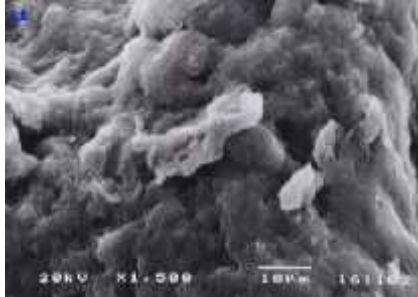
Bakteri probiotik	Populasi awal (CFU/ml)	Sblm <i>freeze dry</i>	Stlh <i>freeze dry</i> ( $\log_{10}$ CFU/g)	Penurunan populasi
<i>L. acidophilus</i>	$10.36 \pm 0.08$	$9.18^a \pm 0.27$	$7.75^b \pm 0.42$	1.43 (15.58%)
<i>B. longum</i>	$8.88 \pm 0.04$	$8.74^a \pm 0.16$	$7.86^b \pm 0.28$	0.88 (10.07%)

#### Karakterisasi Hasil Enkapsulasi Bakteri Probiotik

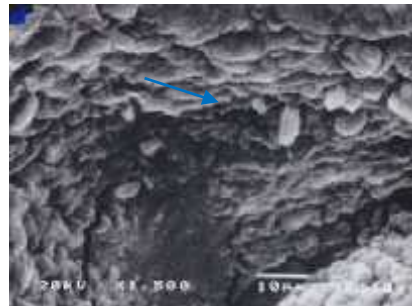
Karakterisasi bakteri probiotik hasil enkapsulasi meliputi gambaran morfologi permukaan luar dan efisiensi proses

enkapsulasi yang dihasilkan. Gambaran morfologi bakteri terenapsulasi menggunakan penyalut alginat dibandingkan dengan bakteri tanpa enkapsulasi menggunakan SEM terdapat pada Gambar 2. Tampak permukaan alginat yang tidak rata pada Gambar 1a

dan 1c. Butiran hasil enkapsulasi berbentuk *crumble* (serbuk). Hal ini disebabkan proses pembentukan biokapsul melalui berbagai tahap penyaringan, sehingga pada saat *freeze dry* bentuk yang dihasilkan mengerut dan tidak seragam. Berdasarkan hasil penelitian Allan-Wotjas *et al.* (2007)



mikrokapsul yang dihasilkan berbentuk bulat dengan *B. lactis* menempel pada bahan penyalut alginat. Probiotik *L. acidophilus* dan *B. longum* selanjutnya diujikan untuk mengetahui keberhasilan enkapsulasi, dengan menumbuhkannya didalam susu.



Gambar 2. Hasil SEM bakteri probiotik *L. acidophilus* (La RRM-01) dan *B. longum* (Bl RRM-01). Ket: a. *L. acidophilus* terenkapsulasi, b. *L. acidophilus* tanpa enkapsulasi, c. *B. longum* terenkapsulasi dan d. *B. longum* tanpa enkapsulasi. Tanda panah menunjukkan masing-masing bakteri pengamatan.

Hasil yang diperoleh setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, bakteri probiotik *L. acidophilus* terenkapsulasi tidak mengalami koagulasi demikian juga *B. longum*, meski ada sebagian bakteri yang diluar penyalut namun demikian susu tidak terkoagulasi dengan nilai pH berturut-turut sebesar 5 dan 6. Dibandingkan dengan kontrol *L. acidophilus* dan *B. longum* menggunakan kultur starter cair diperoleh nilai pH yang sama, yaitu 4. Proses inokulasi starter menurut Rahman *et al.* (1992) terjadinya proses degradasi laktosa dan produksi asam laktat dapat mengakibatkan penurunan pH, sehingga kadar asam susu menjadi relatif tinggi dan terbentuk gumpalan (*curd*) dan proses ini yang

menjadi dasar dalam produksi susu fermentasi.

### KESIMPULAN

Proses pengeringan menggunakan *freeze dry* untuk menghasilkan bakteri probiotik, mampu mempertahankan jumlah populasi  $10^7$  CFU/g. Pengujian mikrobiologis tidak mempengaruhi viabilitas *L. acidophilus* dan *B. longum*.

### DAFTAR PUSTAKA

Allan-Wotjas P, Truelstrup Hansen L, Paulson AT. 2007. Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. LWT Elsevier. 41: 101-108.

- Anal AK, Singh H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Sci & Tech*. 18: 240-251.
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Sedarnawati, Budiyanto S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, Wooton M. 1985. *Ilmu Pangan*. Purnomo H, penerjemah. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Dave RI, Shah NP. 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria* [abstrak]. Di dalam: *J Dairy Science* 79(9): 1529-1536.
- Dewan Standardisasi Nasional. SNI 01-2891-1992. *Cara Uji Makanan dan Minuman*. Jakarta: Standar Nasional Indonesia.
- Fardiaz S. 1989. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor.
- Harmayani E, Ngatirah, Rahayu ES, Utami T. 2001. Ketahanan dan viabilitas probiotik bakteri asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode *freeze* dan *spray drying*. *J Teknol dan Industri Pangan* 12(2): 126-132.
- Reyed MR. 2007. Novel hybrid entrapment approach for probiotic cultures and its application during lyophilization. *Internet J Microbiology*.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika: Suatu Pendekatan Biometrik*. Sumantri B, penerjemah. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Sultana K *et al.* 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Inter J Food Microbiol* 62: 47-55.